

学 位 論 文 題 名

Study on Novel Metalloproteinase Inhibitors Based on Sugar-Mimetic Template

(Sugar-Mimetic を基本骨格とした
新規メタロプロテアーゼ阻害剤に関する研究)

学位論文内容の要旨

メタロプロテアーゼは亜鉛含有酵素の一種であり、大別してマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)と膜結合型メタロプロテアーゼ(ADAM)に分類される。MMP は主として細胞外マトリックスを基質とする一群のメタロプロテアーゼからなる遺伝子ファミリーでヒトでは 23 種類の分子から構成される。それらは、コラゲナーゼ群(MMP-1,8,13)、ゼラチナーゼ群(MMP-2,9)、ストロメライシン群(MMP-3,10)、膜型 MMP 群(MMP-14 等)およびマトリライシン(MMP-7 等)に分類され、組織を正常に構築し維持するために不可欠なプロテアーゼである。しかし、その一方で、関節疾患や癌など多くの病的組織で MMP の過剰発現が認められることから、医薬品開発の格好の標的となり MMP 阻害剤の開発研究が精力的に展開されている。

一方、ADAM の遺伝子ファミリーはドメイン構造の違いから膜型 ADAM と分泌型 ADAM に大別され、既に 40 種以上の分子が同定されている。これらの中でも ADAM17 (TACE)が最もよく研究されその機能解明が進んでおり、膜表面蛋白として発現している TNF- α (tumor necrosis factor- α)の遊離を担う酵素であることが分かっている。TNF- α は、炎症反応に見られるあらゆる局所性および全身性反応をもたらすサイトカインカスケードの最上流因子でさまざまな炎症反応に関与していることから、TACE 阻害剤は慢性関節リウマチを初めとする主々の炎症性疾患や糖尿病等の治療薬として期待されている。また、近年 ADAM12 は膜結合型ヘパリン結合型上皮増殖因子(HB-EGF)の膜表面からの切り出しを担う酵素であることが明らかとなっている。HB-EGF は、皮膚のケラチノサイトの増殖に関与していることから、ADAM12 の阻害剤はケラチノサイトの異常増殖を特徴とする疾患、乾癬の治療薬として期待できる。さらに最近東山らは、G タンパク共役受容体(GPCR)アゴニストによって誘起される心肥大が ADAM12 阻害剤で抑制されることを報告しており、心肥大の治療薬としての可能性を示された。

ところで、これまで MMP/ADAM 阻害剤の開発を目的とした研究が活発に行なわれ、多くの低分子阻害剤が見い出されている。第一世代の阻害剤は、酵素の触媒部位に結合する基質をもとにデザインされた Marimastat を代表とするペプチド型阻害剤 (Figure 1)で、亜鉛リガンドであるヒドロキサム酸、酵素側の S1'ポケットと相互作用する P1'側鎖を有する点が特徴である。その後、第二世代の阻害剤として AG3340 をはじめとするスルホンアミド系阻害剤が検討されている (Figure 1)。しかしながら、これまでの MMP/ADAM 阻害

剤は強い阻害活性を有するものの、水に対する溶解性など改善すべき問題点が残されていた。

本研究では、新規メタロプロテアーゼ阻害剤を開発する目的で Sugar-Mimetic であるアザ糖に着目し、デザイン、合成および評価について検討した (Figure 2)。今回デザインした新規メタロプロテアーゼ阻害剤は 3 位、4 位および 5 位に水酸基を導入していることから、これまでのスルホンアミド系 MMP 阻害剤より溶解性が改善されることが期待でき、また立体配置が明らかな糖誘導体、すなわち L-Threitol、L-Gulono-1,4-lactone、D-Mannono-1,4-lactone、L-Glucono-1,5-lactone および D-Gulonic γ -lactone を出発物質として利用することにより、複数の不斉炭素の立体化学を容易に制御できる。本研究の結果、1) 今回デザインしたアザ糖化合物は、メタロプロテアーゼ阻害剤として機能できること、2) アザ糖の 2 位のヒドロキサム酸の立体配置ばかりでなく、3 位、4 位、5 位水酸基 (特に 3 位、4 位水酸基) の立体配置もメタロプロテアーゼ阻害活性に対し重要な役割を果たしており、3 位、4 位、5 位水酸基の立体配置を適切に制御することで活性スペクトルの異なるメタロプロテアーゼ阻害剤を創製できること、3) アザ糖の 5 位水酸基の立体配置は溶液中での安定性に影響を与えること、4) 今回開発候補化合物として最終的に選択した化合物; (2R,3R,4R,5R)-3,4,5-Trihydroxy-1-(4'-phenoxybenzenesulfonyl)-piperidine-2-carboxamide (Figure 3) は、乾癬モデルであるマウス TPA 誘発皮膚肥厚モデルにおいて有効であり、乾癬治療薬の候補になりうるということが明らかとなった。また、アザ糖化合物の CD スペクトルの測定を行なったところ、メタロプロテアーゼ阻害活性と相関しており、構造的な違いが阻害活性に影響していることも明らかとなった。

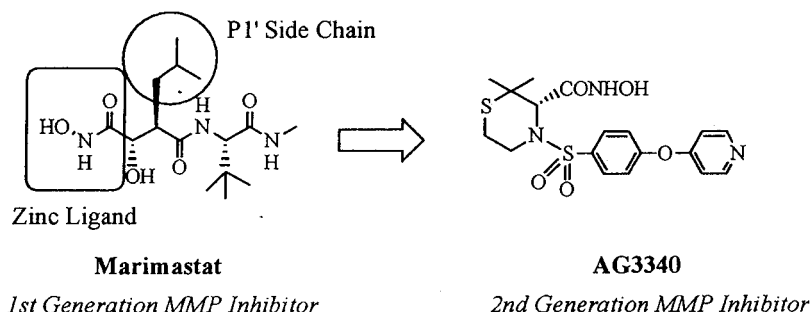


Figure 1. Representative MMP Inhibitors

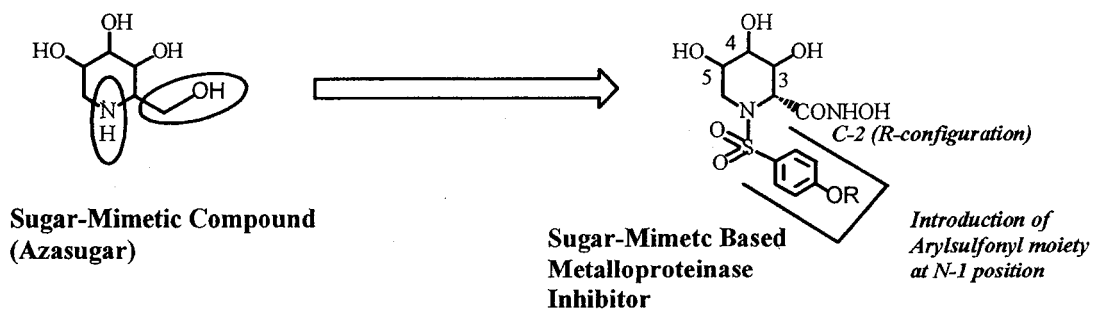


Figure 2. Design of Novel Sugar-Mimetic Based Metalloproteinase Inhibitor

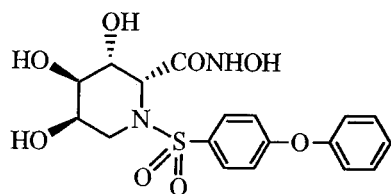


Figure 3. Selected Azasugar-Based MMP/ADAM Inhibitor

以上

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 紳一郎

副 査 教 授 坂 入 信 夫 (大学院地球環境科学研究科)

副 査 助教授 門 出 健 次

副 査 助教授 出 村 誠

学 位 論 文 題 名

Study on Novel Metalloproteinase Inhibitors Based on Sugar-Mimetic Template

(Sugar-Mimetic を基本骨格とした

新規メタロプロテアーゼ阻害剤に関する研究)

メタロプロテアーゼは亜鉛含有酵素の一種であり、大別してマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)と膜結合型メタロプロテアーゼ(ADAM)に分類される。MMP は主として細胞外マトリックスを基質とする一群のメタロプロテアーゼからなる遺伝子ファミリーでヒトでは 23 種類の分子から構成され、それらは、組織を正常に構築し維持するために不可欠なプロテアーゼである。しかし、その一方で、関節疾患や癌など多くの病的組織で MMP の過剰発現が認められることから、医薬品開発の格好の標的となり MMP 阻害剤の開発研究が精力的に展開されている。

一方、ADAM の遺伝子ファミリーはドメイン構造の違いから膜型 ADAM と分泌型 ADAM に大別され、既に 40 種以上の分子が同定されている。これらは、膜表面蛋白として発現しているサイトカインや増殖因子の遊離を担う酵素であることが分かっている。近年、ADAM12 が膜結合型ヘパリン結合型上皮増殖因子(HB-EGF)の膜表面からの切り出しを担う酵素であることが明らかとなっている。HB-EGF は、皮膚のケラチノサイトの増殖に関与していることから、ADAM12 の阻害剤はケラチノサイトの異常増殖を特徴とする疾患：例えば乾癬の治療薬として期待できる。

これまで MMP/ADAM 阻害剤の開発を目的とした研究が活発に行なわれ、ペプチド型阻害剤である Marimastat やスルホンアミド系阻害剤である AG3340 などの多くの低分子阻害剤が見い出されている。しかしながら、これまでの MMP/ADAM 阻害剤は強い阻害活性を有するものの、水に対する溶解性など改善すべき問題点が残されていた。

本研究は、新規メタロプロテアーゼ阻害剤を開発する目的で Sugar-Mimetic であるアザ糖に着目し、デザイン、合成および生物活性評価について検討したものである (Figure 1)。今回デザインした新規メタロプロテアーゼ阻害剤は 3 位、4 位および 5 位に水酸基を導入していることから、これまでのスルホンアミド系 MMP 阻害剤より溶解性が改善されることが期待でき、また立体配置が明らかな糖誘導体、すなわち L-Threitol、L-Gulono-1,4-lactone、D-Mannono-1,4-lactone、L-Glucono-1,5-lactone および D-Gulonic γ -lactone を出発物質として利用することにより、複数の不斉炭素の立体化学を容易に制御できる。本研究の結果、以下の有用な知見を見い出した。すなわ

ち、1) デザインしたアザ糖化合物は、メタロプロテアーゼ阻害剤として機能しうること、2) アザ糖の2位のヒドロキサム酸の立体配置ばかりでなく、特に3位、4位水酸基の立体配置もメタロプロテアーゼ阻害活性に対し重要な役割を果たしていること、3) アザ糖の5位水酸基の立体配置は水溶液中での安定性に影響を与えることを明らかにした。また、今回開発候補化合物として最終的に選択した化合物：**(2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-3,4,5-Trihydroxy-1-(4'-phenoxybenzenesulfonyl)piperidine-2-carboxamide** (Figure 2)は、水溶液中で安定であり、且つ *in vitro* において強い阻害作用を示し、さらにマウス乾癬モデルである TPA 誘発表皮肥厚モデルにおいて有効であることを明らかにした。それゆえ、この化合物は、乾癬治療薬の開発候補化合物になりうると示唆される。

また、アザ糖化合物の3,4,5位水酸基の立体配置と、阻害活性の相関を明らかにするために、アザ糖化合物のCDスペクトルの測定を行なった。NMRスペクトルの*J*値と併せて比較した結果、(3*R*,4*R*)の立体配置を有する化合物のコンフォメーションは、対応する(3*S*,4*S*)の立体配置を有する化合物のそれとは異なり、そのコンフォメーションの違いがメタロプロテアーゼ阻害活性と相関していることを明らかにした。本知見は、水酸基の立体配置を適切に制御することで活性スペクトルの異なるメタロプロテアーゼ阻害剤を創製できることを示唆しており、今後、選択的酵素阻害剤のデザインを行う上で有用である。

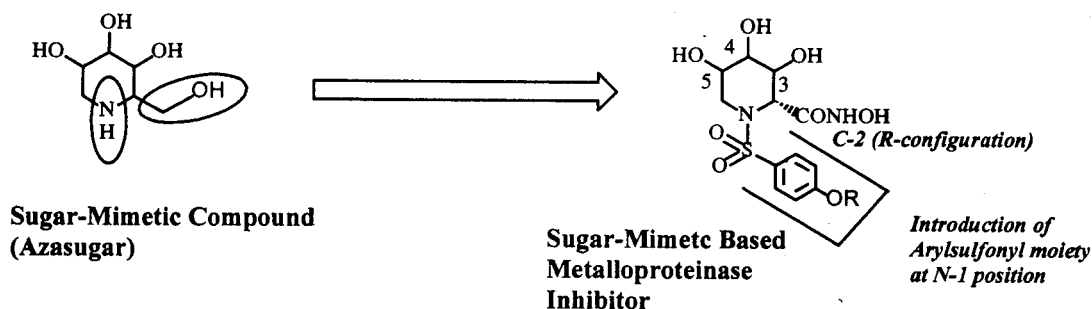


Figure 1. Design of Novel Sugar-Mimetic Based Metalloproteinase Inhibitor

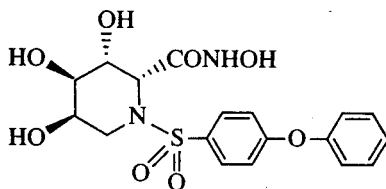


Figure 2. Selected Azasugar-Based MMP/ADAM Inhibitor

これを要するに、著者は、新規メタロプロテアーゼ阻害剤の開発を行なう過程で、アザ糖 Scaffold のコンフォメーションが活性をコントロールするという新知見を得たものであり、且つメタロプロテアーゼが関与する皮膚疾患：乾癬の有用な開発候補化合物を見出すという成果も挙げている。この知見は、酵素阻害剤研究に対して種々の活性スペクトルを有する化合物をデザインする上で貢献大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。